

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 175

Contribution à l'Etude du Dosage
de la Caféine dans la Noix de Kola,
en particulier
par la Méthode Iodométrique

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 8 Juillet 1932

PAR

Marthe DUBREUIL

Ex-Interne en Pharmacie suppléant des Hôpitaux

Née le 19 Décembre 1898 à LYON (Rhône)



LYON

BOSC Frères, M. et L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

—
1932



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Contribution à l'étude du dosage de la caféine
dans la noix de Kola
en particulier par la méthode iodométrique

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 175

Contribution à l'Etude du Dosage
de la Caféine dans la Noix de Kola,
en particulier
par la Méthode Iodométrique

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 8 Juillet 1932

PAR

Marthe DUBREUIL

Ex-Interne en Pharmacie suppléant des Hôpitaux

Née le 19 Décembre 1898 à LYON (Rhône)



LYON

BOSC Frères, M. et L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

—
1932

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE
Assesseur	M. ROLLET

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. CAZENEUVE, ROQUE, LANNOIS, HUGOUNENQ, ROCHET, BARRAL.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. PIC
	PAVIOT
Cliniques chirurgicales	TIXIER
	BERARD
Clinique obstétricale et Accouchements	VORON
Clinique ophtalmologique	ROLLET
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	NICOLAS
Clinique neurologique et psychiatrique	LEPINE (J.)
Clinique des maladies des enfants	MOURIQUAND
Clinique des maladies des femmes	VILLARD
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	COLLET
Clinique des maladies des voies urinaires	GAYET
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie	NOVE-JOSSERAND
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	COURMONT
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	CLUZET
Chimie biologique et médicale	FLORENCE
Chimie organique et Toxicologie	MOREL
Matière médicale et Botanique	MANCEAU
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	GUIART
Anatomie	LATARJET
Histologie	POLICARD
Physiologie	DOYON
Pathologie externe	LERICHE
Pathologie interne	FROMENT
Pathologie et Thérapeutique générales	CADE
Anatomie pathologique	FAVRE
Chirurgie opératoire	PATEL
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie	ARLOING (F.)
Médecine légale	Etiemme MARTIN
Hygiène	ROCHAIX
Thérapeutique	SAVY
Pharmacie et Pharmacologie	LEULIER
Hydrologie thérapeutique et climatologie	PIERY

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Propédeutique de gynécologie	MM. CONDAMIN
Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale	THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie	NOEL

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Puériculture et hygiène de la première enfance	MM. RHENTER
Chirurgie expérimentale	TAVERNIER
Applications du radium	NOGIER
Stomatologie	TELLIER

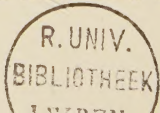
AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	DUFOUT	BERNHEIM	MORENAS
RHENTER	DEVIC	DECHAUME	REBATTU Ch..
MAZEL	GABRIELLE	POLLOSSON	REVOL Ch..
SANTY	MARTIN (Joseph)	CHAMBON	ENSELME Ch...
CHALIER (André)	ROCHET (Ph.)	CIBERT	SÉDALLIAN Ch..
CHALIER (Joseph)	WERTHEIMER	EPARVIER	
DUMAS	GATE	GUILLEMINET	

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. MANCEAU, président ; LEULIER, assesseur ;
CHAMBON et REVOL

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A LA MÉMOIRE DE MA SŒUR JEANNE

A MA MÈRE

A MON MARI

A TOUS LES MIENS

A LA MÉMOIRE DE MONSIEUR LE PROFESSEUR BRETIN

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MANCEAU
Professeur de Botanique et Matière Médicale
Chevalier de la Légion d'Honneur

A MES JUGES

Contribution à l'étude du dosage de la caféine dans la noix de Kola en particulier par la méthode iodométrique

Introduction

Le Codex prescrit un procédé officiel bien connu de dosage de la caféine dans la noix de Kola sèche. Mais il existe un grand nombre d'autres techniques mises au point pour la détermination de l'alcaloïde principal des drogues dites « à caféine ». — Récemment encore, au cours d'un beau travail effectué dans les laboratoires de nos maîtres, MM. les Professeurs Bretin et Manceau, Morin (3 et 17) en a publié une revue très complète ; s'occupant plus particulièrement des essais du thé, il a proposé une classification de ces méthodes selon la nature du solvant utilisé pour l'extraction.

Celles qu'il range dans la première catégorie (c'est-à-dire qui utilisent l'eau bouillante avec ou sans addition d'une base) sont rarement utilisées pour la Kola. Dans ce groupe, cependant, se place la méthode de Gomberg, qui a l'originalité de se terminer par une estimation quantitative iodométrique de la caféine.

Or, les dosages iodométriques d'alcaloïdes ont été à peu près totalement délaissés depuis Gomberg. Frappé

de ce fait, M. le Professeur Bretin nous avait conseillé d'étudier la question, tout d'abord en utilisant de la caféine pure, puis en essayant l'extension à la Kola de la méthode ainsi mise au point. C'est qu'en effet la technique de Gomberg ne donne pas toujours des résultats parfaits, et M. le Professeur Bretin estimait qu'elle avait besoin d'être revue de près.

Nos essais nous ont montré que, moyennant l'observation stricte de certaines conditions bien précises d'acidité et de dilution, en modifiant quelque peu le mode opératoire de Gomberg et l'emploi de son coefficient, la précipitation de la caféine par l'iode se produit dans des conditions très régulières ; on peut alors effectuer par iodométrie des dosages rigoureux de caféine.

M. le Professeur Bretin nous a alors conseillé d'appliquer les résultats ainsi obtenus au dosage de la caféine chimiquement pure contenue dans les résidus auxquels conduit la méthode du Codex. C'est là un moyen de contrôler le degré de pureté de ces résidus, que la technique officielle fait peser comme étant de la caféine pure.

C'est l'ensemble de ces recherches que nous allons exposer, ainsi que les conclusions que nous avons cru pouvoir tirer de nos résultats comparatifs.

Dans un premier chapitre, nous avons résumé les travaux essentiels qui ont été effectués sur quatre des meilleures techniques proposées pour le dosage de la caféine : Méthodes du Codex, du Formulaire des Hôpitaux militaires 1917, de Power et Chesnut, et de Gomberg.

Cette dernière étant la seule qui utilise la précipitation quantitative de la caféine par le réactif iodo-ioduré, nous avons étudié, dans un second chapitre, l'iodométrie appliquée au dosage des alcaloïdes en général.

Les deux chapitres suivants relatent nos essais personnels, d'une part sur les quatre méthodes déjà citées, d'autre part sur l'iodométrie de la caféine chimiquement pure.

Dans un cinquième chapitre, enfin, nous parlons de nos essais pour appliquer au dosage de la caféine dans la noix de Koia la méthode iodométrique de Gomborg, telle que nous croyons avoir pu la préciser et l'améliorer.

Nous sommes infiniment émue à la pensée de la bienveillance avec laquelle M. le Professeur Bretin avait bien voulu nous accueillir et nous diriger. Jusqu'en ses derniers moments il s'est consacré à ses élèves, et son inépuisable dévouement restera toujours dans le souvenir de ceux qui l'ont connu.

Notre sincère reconnaissance va aussi à M. le Professeur Manceau, qui a bien voulu continuer à diriger ce travail et accepter la présidence de notre thèse.

CHAPITRE PREMIER

Les principaux procédés de dosage de la caféine dans les plantes dites à caféine en particulier dans la Kola

La plus grande partie de l'alcaloïde se trouvant dans les drogues dites « à caféine » en combinaison avec des tanins ou des acides, tout dosage de caféine doit nécessairement commencer par la destruction de ces combinaisons. L'alcaloïde ainsi mis en liberté, généralement à l'aide d'un alcali, pourra ensuite être extrait au moyen d'un solvant convenable.

De ce point de vue, Morin (4 et 17) a classé les principales méthodes de dosage de la caféine en 3 catégories, selon qu'elles utilisent pour l'extraction :

- 1° l'eau bouillante avec ou sans addition d'une base;
- 2° des solutions aqueuses de salicylate ou de benzoate de soude ;
- 3° des solvants organiques avec ou sans addition d'une base.

Dans le premier groupe, deux méthodes retiendront particulièrement notre attention : celle de la Pharmacopée militaire française de 1917 (8) et celle de Gom-

berg (11). Nous les étudierons toutes les deux en détail.

Les méthodes du deuxième groupe ont été à peu près totalement abandonnées. En effet, si au premier abord elles paraissent simples et rapides, l'épuisement ne s'en fait pas moins fort mal, et demande plusieurs heures pour être suffisant ; de plus, l'emploi ultérieur du chloroforme produit fréquemment des émulsions tenaces qu'il est très difficile de détruire.

Le troisième groupe enfin réunit plusieurs méthodes importantes, parmi lesquelles celle de Power et Chesnut (18) et celle du Codex de 1908 (5).

Nous allons étudier plus en détail les principales de ces méthodes, et en particulier celles du Codex, du Formulaire des Hôpitaux militaires, de Power et Chesnut, et de Gomberg, qui sont les plus caractéristiques et les mieux mises au point.

1° PROCÉDÉ DU CODEX

Le Codex de 1908 indique pour le dosage de la noix de Kola le procédé de Léger : mise en liberté de la caféine par la magnésie, extraction par le chloroforme, distillation, purification de l'alcaloïde brut par reprise au moyen d'HCl dilué, déplacement par l'ammoniaque et extraction finale avec du chloroforme. La caféine ainsi obtenue après distillation à sec est considérée comme suffisamment pure pour être pesée après dessiccation convenable.

Ce procédé a été très étudié, particulièrement par Legrip et Petit, Trillich et Gockel, Lendrich et Nott-

bohm, François (10), Meillère (16), Blondet-Desbordes (1). La complication assez grande de la technique officielle a nécessité en effet une étude détaillée de ses nombreux points. Ainsi, il semble bien démontré maintenant qu'il est tout à fait nécessaire d'humecter au préalable le mélange de la poudre de Kola et de magnésie. Il y a toujours une forte économie de temps à mettre en contact la kola et l'alcali avec l'eau pendant 2 heures.

Nous verrons que nos résultats confirment entièrement cette observation et nous montrerons, en conclusion de nos essais, que le procédé du Codex, suivi très exactement pour les préparations galéniques de Kola donne assez rapidement de bons résultats qui n'encourent pas les reproches d'inconstance que leur a fait Blondet-Desbordes ; mais pour la poudre de Kola, la méthode est moins régulière et nous nous efforcerons de l'améliorer.

2° MÉTHODE DU FORMULAIRE DES HOPITAUX MILITAIRES (1917)

Le Formulaire des Hôpitaux militaires 1917 donne au mot « Kola » les indications suivantes : « Dosage de la caféine, opérez comme pour le café. » D'après les indications que le même Formulaire donne pour le café, la drogue doit être pesée et placée dans un appareil à épuisement continu où on la traite par 50 fois environ son poids d'eau distillée bouillante. Trois heures au moins sont nécessaires pour un épuisement complet. Le digesté limpide à chaud, se trouble forte-

ment par refroidissement ; on complète avec de l'eau distillée à un volume connu dont on prélève la moitié qu'on porte à l'ébullition, on ajoute de l'acétate basique de plomb pour déféquer, puis un excès de solution saturée de sulfate de soude pour précipiter l'excès de plomb. Après filtration et refroidissement, on épuise la liqueur aqueuse par du chloroforme à 4 reprises. Les liqueurs chloroformiques réunies et filtrées sont évaporées et l'on pèse le résidu après refroidissement.

Modification de Morin. — Morin (17) dans son travail sur le dosage de la caféine dans le thé, a préconisé une méthode qui dérive de la méthode du Formulaire des Hôpitaux militaires, c'est-à-dire qui utilise l'action dissolvante de l'eau sur la caféine ; mais il commence par mettre au préalable le thé en contact avec de l'ammoniaque en quantité convenable ; l'ammoniaque paraît faire gonfler les cellules de la drogue et les rendre plus aisément perméables au liquide qui doit assurer l'extraction de la caféine.

Nous verrons dans un chapitre ultérieur les observations que nous avons pu faire en essayant d'appliquer cette méthode de Morin à la Kola.

3° MÉTHODE DE POWER ET CHESNUT

Parmi les procédés qui utilisent un solvant organique avec ou sans addition d'une base, le plus grand nombre emploient le chloroforme comme solvant. Mais quelques-uns cependant ont recours à l'alcool ; la plus récente de ces techniques, celle de Power et Chesnut (18) semble bien être mise au point. A dire

vrai, d'ailleurs, l'alcool y joue un rôle intermédiaire, celui d'extracteur, non pas de la caféine exclusivement, mais de tout « l'extract » soluble. On amène donc à l'état intermédiaire « d'extract » de Kola, et l'on dose la caféine de cet extract.

La technique des auteurs est la suivante :

On épuise au Soxhlet 10 gr. de plante pulvérisée, au moyen d'alcool chaud. On ajoute au liquide d'épuisement 10 gr. de magnésie calcinée délayée dans 100 gr. d'eau distillée. On évapore lentement ce mélange au bain-marie jusqu'à obtention d'une masse à peu près sèche qu'on délaie ensuite avec une assez grande quantité d'eau (de façon à avoir un mélange filtrable), on filtre alors et lave le résidu sur le filtre avec de l'eau chaude, de manière à avoir un certain volume de liquide. On ajoute de l'acide sulfurique dilué, et on fait bouillir une demi-heure pour hydrolyser les saponines possibles. On filtre à nouveau, et on épuise dans une boule à décantation une partie aliquote du filtrat par du chloroforme, à plusieurs reprises. Les liqueurs chloroformiques réunies sont additionnées de 5 cc. de KOH diluée pour éliminer la matière colorante, et la solution chloroformique ainsi purifiée est enfin évaporée dans un récipient taré ; on pèse après dessiccation convenable à l'étuve.

Pour Blondet-Desbordes (1) ce mode opératoire est « commode », il semble bien que, pour le dosage de la caféine dans la poudre de Kola, cette méthode soit tout à fait recommandable.

En suite de Blondet-Desbordes, Morin a utilisé la

méthode de Power et Chesnut en l'appliquant à des dosages de thé. Il résume ainsi ses observations :

« Cette méthode utilisée pour le thé nous a donné de bons résultats ; nous devons dire cependant que son principal avantage est d'être générale, et de s'appliquer à toutes les drogues à caféine, à condition de faire varier la durée de l'épuisement suivant la nature de la substance considérée. Dans le cas particulier du thé, l'épuisement demande environ 4 heures et il ne semble pas que cette méthode doive être préférée à celle du Codex. »

Nous verrons par la suite que, pour la Kola, non seulement nos résultats confirment entièrement cette conclusion de Morin, mais même ils nous permettent d'affirmer que le procédé de Power et Chesnut est nettement inférieur au procédé officiel.

4° MÉTHODE DE GOMBERG

Gomberg (11), après avoir soutenu l'idée qu'il est impossible d'extraire entièrement la caféine par le chloroforme, a fait connaître, en 1896, une méthode qui épuise la Kola par l'eau bouillante, puis élimine les matières albuminoïdes par l'acétate de plomb, et précipite la caféine à l'état d'iodure d'iodhydrate cristallisé en aiguilles hexagonales que l'eau dissocie d'eux-mêmes. On peut, soit recueillir le précipité et le peser, soit le doser volumétriquement.

Cette méthode, appliquée à la Kola, a tous les inconvénients de l'extraction par l'eau. Nous les verrons

plus loin en étudiant comme nous l'avons dit précédemment la méthode du Formulaire des Hôpitaux Militaires, mais elle a l'avantage d'employer pour le dosage proprement dit, l'iodométrie à laquelle nous consacrerons le chapitre suivant.

CHAPITRE II

L'iodométrie appliquée au dosage des alcaloïdes

Les propriétés précipitantes du réactif iodo-ioduré vis-à-vis de nombreux alcaloïdes ont été utilisées dès Bouchardat pour leurs dosages. Linarix (15) a réuni, dans un beau travail, les principales recherches faites avant lui sur les periodures d'alcaloïdes et de bases organiques. Il a montré que ces corps sont cristallisés, renferment un ou plusieurs atomes d'iode, et possèdent toutes les propriétés de l'iode libre, la base restant inattaquée. Il a de plus étudié plusieurs periodures d'alcaloïdes nouveaux, et montré que les précipités qui se forment lors de l'addition du réactif iodo-ioduré à une solution d'alcaloïde salifié sont formés tantôt d'iodures, tantôt d'iodures d'iodhydrates, tantôt de mélanges de nombreux periodures, plus ou moins nombreux suivant l'excès d'iode, l'acidité, la quantité d'iodure alcalin ou d'acide iodhydrique du milieu.

Ainsi Gomberg aurait pu [d'après Linarix (15)] préparer 4 periodures de caféine tandis que Tilden avait obtenu un diiodure d'iodhydrate de caféine hydraté.

Tous ces faits expliquent clairement les nombreuses irrégularités constatées dans les dosages d'alcaloïdes essayés au moyen de solutions iodo-iodurées par différents auteurs : Kippenberger (12), Rodionow (20), Stoltz (22), Schweissinger (21), à la suite des premiers travaux de Wagner (24) et Dragendorff (17). Ce dernier auteur avait d'ailleurs émis des doutes sur l'efficacité de telles méthodes, disant que l'iode mis en liberté par des réactions secondaires peut décomposer les alcaloïdes eux-mêmes.

Cependant il faut reconnaître qu'il est difficile d'établir à ce sujet des généralités s'appliquant à tous les alcaloïdes ; s'il en est pour lesquels l'iodométrie est nettement inutilisable par suite de réactions secondaires (telle la brucine, attaquée et oxydée par l'iode), il en est d'autres pour lesquels au contraire on a pu mettre au point des méthodes iodométriques exactes, tels les alcaloïdes étudiés par Prescott et Gordin (19).

Ces méthodes demandent, il est vrai, à être précisées le plus étroitement possible. Comme l'a dit très exactement Debreuille (6) dans son étude sur la précipitation des alcaloïdes par l'iodomercurate de potassium, « il est important de retenir que, quelle que soit la technique employée, il faut l'appliquer toujours dans des conditions absolument identiques si l'on veut avoir des résultats comparables. Plusieurs facteurs interviennent en effet qui peuvent modifier la précipitation ».

Il faut tenir compte de la formule exacte du réactif précipitant, de sa teneur en iodure alcalin, de la dilu-

tion qui a une très grosse influence, de la durée de précipitation et enfin de la réaction du milieu dont l'importance est extrême dans le cas de la caféine ; celle-ci ne précipite en effet par le réactif iodo-ioduré qu'en milieu suffisamment acide.

Aussi, dans notre cas, les conclusions de Debreuille s'appliquent-elles parfaitement pour établir un procédé de dosage d'alcaloïdes par iodométrie ; pour chaque alcaloïde il faut établir un « coefficient moyen de précipitation », c'est-à-dire déterminer la quantité d'alcaloïde précipitée par chaque centimètre cube de réactif.

De plus, *« les coefficients établis dans des conditions bien déterminées ne peuvent être valables qu'en opérant d'une façon rigoureusement identique »*.

D'ailleurs Dragendorff signalait déjà qu'il y a avantage, lors de l'emploi du réactif iodo-mercurique de Mayer, dans un but quantitatif, à déterminer le « titre » du réactif par un essai préalable sur une solution connue d'alcaloïde au lieu de s'en rapporter aux coefficients théoriques indiqués par Mayer. Et Ogier, essayant d'appliquer cette méthode au dosage de très petites quantités d'alcaloïdes en toxicologie, recommandait de se servir d'une solution connue d'alcaloïde à doser, de concentration à peu près identique à celle de la liqueur à analyser, et de pratiquer le titrage du réactif et le dosage de l'alcaloïde dans des conditions exactement comparables.

Nous verrons par la suite que si nous avons pu améliorer la méthode de Gomberg, et la rendre vraiment pratique, c'est en travaillant dans des conditions bien

précises, facilitées par ce fait que, lors de dosages de Kola ou de préparations galéniques de Kola, ce sont des quantités du même ordre de grandeur et variant relativement peu que l'on a à doser ; il faudra continuellement suivre ces indications étroites, nous en verrons toute l'importance selon les variations des différents facteurs dont nous avons parlé ; et les coefficients de transformation que nous emploierons, après les avoir déterminés par l'expérience, ne sont pas exactement ceux de Gomberg.

Gomberg (11) le premier, constatant que les alcaloïdes forment, en général, suivant les conditions et les détails du mode opératoire, plusieurs périodes, montra qu'il faut déterminer, pour chaque alcaloïde, les conditions optima de précipitation, ainsi que les rapports entre l'alcaloïde et l'iode fixé. Il donna alors le premier procédé de dosage de la caféine, basé sur la formation de tétraiodure d'iodhydrate; nous l'avons rappelé dans ses grandes lignes au chapitre précédent.

Sa méthode fut appliquée ensuite à plusieurs alcaloïdes par Prescott et Gordin (19) qui modifièrent sa première technique et ses coefficients.

Ces derniers auteurs constatèrent que si l'on verse la solution d'un sel d'alcaloïde dans un excès d'une solution iodo-iodurée, c'est de façon constante le périodure le plus riche en iode qui se forme. Ils notèrent bien que le liquide surnageant le précipité doit avoir une coloration non pas jaune, mais rouge sombre (indiquant un grand excès d'iode).

Dans ces conditions seulement on obtient les périodes les plus riches en iode.

Pour Gordin et Prescott, un étalonnage expérimental leur permit pour chaque alcaloïde étudié (atropine, strychnine, morphine, émétine, hydrastine et caféine) de déterminer « le facteur alcaloïdique » de 1 cc. de solution N/10 d'iode par rapport à l'alcaloïde considéré. La caféine, par exemple, leur donne le coefficient 0,00485, c'est-à-dire que, d'après leurs recherches, 1 cc. d'iode N/10 précipite 4 millig. 85 de caféine.

Il est curieux de noter que l'iodométrie appliquée au dosage de la caféine semble ne pas avoir été reprise depuis Gomberg, tandis que des auteurs récents ont employé ce procédé volumétrique de dosage pour un alcaloïde voisin, la théobromine. C'est ainsi qu'elle a été préconisée, dans ce dernier cas, par Emery et Spencer (25) et Van Breukeleveen (24). Mais ces auteurs ont employé, comme Gomberg, un coefficient de transformation unique, et notre étude ultérieure montrera, croyons-nous pouvoir l'affirmer, que cette façon d'opérer présente de notables inconvénients.

C'est en effet une étude la plus complète possible que nous avons tenté de cette méthode, M. le Professeur Bretin nous ayant fait remarquer à la fois sa simplicité et l'emploi peu fréquent qui semble en être fait. Or, dès nos premiers essais, nous avons été frappé du fait que le coefficient de Gordin et Prescott, appliqué à la caféine pure, donne des résultats assez réguliers, quoique inexacts. Et M. le Professeur Bretin nous a alors suggéré de tenter de serrer le problème le plus près possible en essayant de préciser le mieux que nous le pourrions des conditions rigoureuses de précipita-

tion, surtout pour des quantités de caféine de l'ordre de celles que l'on est appelé à déterminer dans les dosages de Kola par la méthode du Codex.

Conclusion : Les méthodes dites iodométriques de dosage des alcaloïdes peuvent avoir des défauts n'ayant pas de rapport avec l'iodométrie (la partie extraction par exemple). Au contraire, l'iodométrie peut servir seule au dosage des résidus bruts. C'est sur ce point que nous avons insisté.

CHAPITRE III

Essais personnels sur les 4 méthodes étudiées

A) MÉTHODE DU CODEX

Comme nous l'avons rappelé précédemment, de très nombreux travaux ont été effectués sur cette méthode.

Récemment, entre autres, Blondet-Desbordes (1) a essayé d'apporter à la technique officielle quelques modifications car, disait-il, « le procédé n'est pas régulier, et ne donne pas la totalité de la caféine », mais il a dû conclure que ni l'augmentation de volume du chloroforme mis en œuvre, ni l'augmentation du temps d'ébullition chloroformique, ni la conjugaison de ces deux modifications n'ont amélioré la méthode. Il a essayé de faire varier dans d'assez larges mesures le temps de contact préalable de la poudre et de la magnésie, et a vu que cela ne changeait en rien les résultats.

François (10) avait déjà écrit, au sujet de la poudre de Kola : « Le procédé du Codex a besoin d'être modifié. » Mais ce même auteur avait reconnu que ce

procédé appliqué aux préparations galéniques donne des résultats constants et réguliers.

Morin (17), lors de son travail sur le thé, a utilisé la méthode du Codex qui ne diffère que par des détails très faibles de la technique que ce même formulaire officiel prescrit pour la Kola (en effet, pour le thé, on fait simplement en plus un traitement par l'éther de pétrole pour enlever la chlorophylle des feuilles). Or, la conclusion de Morin est la suivante : « Cette méthode qui a été soigneusement étudiée, donne de très bons résultats, à condition de la suivre scrupuleusement. » Il a montré, par exemple, sur 10 échantillons de thé, que la méthode du Codex et la méthode du Formulaire des Hôpitaux militaires de 1917 (8), qui convient très bien au thé par suite de la facile pénétration des feuilles par l'eau chaude, donnent des résultats rigoureusement identiques.

Cependant les observations et les restrictions de François nous semblent exactes : la régularité de la méthode est nettement moins grande pour les poudres que pour les extraits.

Voici quelques-uns des résultats de plusieurs opérations successives où la méthode suivie pour les dosages a été scrupuleusement celle du Codex.

Extrait mou de cola A. — 4 dosages successifs ont donné % :

5,1	5,2	5,2	5,1
-----	-----	-----	-----

Extrait mou de cola B. — 4 dosages successifs ont donné % :

4,9	5,05	4,9	4,8
-----	------	-----	-----

Extrait mou de cola C. — 3 dosages successifs ont donné % :

5,65 5,5 5,4

Extrait mou de Cola D. — 3 dosages successifs ont donné % :

4,6 4,5 4,6

Poudre N° 1. — 3 dosages Codex ont donné % :

2,13 2,27 2,30

Poudre N° 2. — 3 dosages Codex ont donné % :

1,77 1,95 1,86

Poudre N° 3. — 3 dosages Codex ont donné % :

2,00 1,89 1,96

Donc, pour les poudres, la méthode est nettement moins régulière que pour les extraits mous. Il ne nous semble cependant pas que ce soient les points étudiés par Blondet-Desbordes qui doivent être modifiés.

En effet, nous avons repris les essais de cet auteur et nous arrivons exactement aux mêmes conclusions que lui.

Ainsi nous avons fait les essais suivants (sur des extraits mous afin de simplifier quelque peu les opérations communes aux extraits et aux poudres).

Influence de la durée d'ébullition chloroformique.

Cinq dosages pratiqués sur le même extrait mou de Cola A sur des prises d'essai de 3 gr., traitées exactement comme le demande le Codex, sauf que la durée d'ébullition chloroformique est variable, ont donné les résultats suivants :

1 ^{er} dosage.	Ebullition	45 minutes.	Caféine	5,15 %
2 ^e	—	1 heure	—	5,1 %
3 ^e	—	1 h. 30	—	5,2 %
4 ^e	—	2 heures	—	5,2 %
5 ^e	—	4 heures	—	5,2 %

Importance de l'humidification préalable

Nos essais ont été faits sur des échantillons de 3 gr. chacun de l'extrait mou de Cola D.

1° 3 dosages totalement Codex ont donné les chiffres :

4,5 4,6 4,6 % déjà rapportés.

2° Dosage avec contact 1 heure à l'air libre :

Caféine pesée 0,090, soit 4,5 %.

3° Dosage totalement Codex avec 1 heure dans le ballon :

Caféine pesée 0,092, soit 4,6 %.

4° Dosage Codex, mais après 24 heures de contact à l'air libre qui assure l'évaporation de l'excès d'eau, mais maintient celle qui s'est fixée sur la magnésie calcinée pour la transformer en magnésie hydratée :

Caféine pesée 0,093, soit 4,65 %.

5° Dosage Codex, mais après 1 heure de maintien de la poudre (cola + Mgo + eau) à l'étuve à 100° :

Caféine pesée 0,026, soit 1,8 %.

6° Dosage Codex, mais après dessiccation pendant 8 heures à l'étuve à 100° de la poudre de Cola + Magnésie + eau :

Caféine pesée 0,018, soit 0,9 %.

Il y a, comme on le voit, un blocage très net de la caféine ; donc cette humidification que fait faire le Codex est *indispensable* pour que le chloroforme puisse extraire la caféine.

Ainsi, la dessiccation pendant 48 heures sous cloche à SO^4H^2 , recommandée par François, n'est pas nécessaire et peut même au contraire avoir des inconvénients notables.

Pour les poudres, comme nous l'avons rappelé et vu nous-même par les essais ci-dessus, la méthode est moins régulière que pour les extraits ; elle semble présenter un point faible, auquel sont dues ces irrégularités.

On a mis en cause l'extraction de la caféine de ses solutions aqueuses par le chloroforme. Plusieurs essais pratiqués sur des solutions titrées de caféine chimiquement pure, cristallisée, nous ont montré que ce n'était pas à craindre. 50 cc. de solution aqueuse contenant 50 milligrs de caféine crist. sont en effet totalement épuisés par 3 agitations avec 25 cc. de chloroforme chaque fois ; la caféine anhydre obtenue après distillation du chloroforme et dessiccation à l'étuve durant 5 heures à 100° , pèse très exactement 45 mill. 6,

qui correspondent à $\frac{45,6}{0,915} = 49,9$ m. de caféine crist.

Nous croyons pouvoir montrer que, selon l'avis de M. le Professeur Bretin, ce point faible réside *dans la reprise acide du premier résidu brut*. En effet (Codex, p. 168), ce résidu brut séché à 100° , est ensuite traité par de l'acide chlorydrique étendu. (Le Codex ne pré-

cise pas si cette reprise doit se faire à chaud ou à froid.) Or, lorsqu'on pratique cette opération, on est frappé de ce que, même à chaud, elle se fait mal. Le premier résidu de caféine brute est chargé d'impuretés enlevées à la Cola par le chloroforme, malgré la présence de la magnésie. Ces impuretés, plus ou moins résineuses, sont insolubles dans l'eau et justement la reprise par l'eau acidulée a pour but de les éliminer. Ces impuretés grasses ou résineuses, comme dans toutes les purifications d'alcaloïdes, sont incomplètement pénétrées par l'eau acidulée, donc incomplètement et irrégulièrement épuisées; elles peuvent, par suite, amener des pertes par occlusion, ou inclusion, ou englobement. Et certainement les irrégularités de la méthode pouvaient venir, d'après M. le Professeur Bretin, des conditions, variables d'un essai à l'autre, selon lesquelles a lieu l'épuisement de la caféine brute par l'eau acidulée. Il nous a conseillé d'étudier cette question et de chercher à l'améliorer si possible.

D'ailleurs — et il avait bien attiré notre attention sur ce point — le Codex précise insuffisamment le temps nécessaire pour obtenir une dessiccation à 100° du premier résidu de la caféine, puisqu'il se borne à dire : « Séchez le résidu à + 100° ». Si l'on veut obtenir une véritable dessiccation, qui d'ailleurs n'est pas utile, tout au contraire, il faudrait maintenir plusieurs heures à l'étuve et l'on voit nettement le résidu se colorer pendant cette opération; de plus, on constate facilement que la reprise acide est par la suite manifestement plus difficile.

Nous avons alors songé à éviter cette dessiccation à l'étuve. Comme elle a cependant pour but de chasser la totalité du chloroforme, voici comment nous avons opéré :

Les 100 cc.³ de solution chloroformique limpide ayant été prélevés, nous les mettons dans un erlenmeyer avec 30 à 40 cc.³ d'eau distillée et nous distillons alors le tout pour chasser le chloroforme. Quand celui-ci semble avoir totalement disparu, nous enlevons l'erlenmeyer et le portons à l'ébullition directe à feu nu en insufflant de l'air à l'intérieur avec un tube effilé ; avant que la moitié de l'eau soit évaporée, la totalité du chloroforme est chassée.

Il suffit d'ajouter à l'eau de l'HCl dilué. L'eau, tout en empêchant l'action de la chaleur sèche sur les impuretés de la caféine, donc en empêchant leur résinification, en même temps que leur coloration, les laisse en un état beaucoup plus finement divisé, donc beaucoup plus facilement perméable à l'acide.

Evidemment, on ne connaît plus la quantité exacte d'eau qui reste, et l'on ne peut pas prendre, par la suite, une partie aliquote de cette solution acide de caféine, mais il est très simple d'en filtrer la totalité, de laver largement le résidu sur le filtre avec de l'eau acidulée, et d'épuiser la totalité de ces liqueurs par le chloroforme et l'ammoniaque. Il suffira d'employer des quantités de chloroforme un peu plus grandes, par exemple 3 fois 50 cc. au lieu de 3 fois 20 cc., de façon à pouvoir agiter convenablement et bien épuisser les liqueurs aqueuses, et l'on continuera exacte-

ment comme l'indique le Codex. Il suffira de multiplier finalement le résultat par 10 et non par 12.

Nous croyons que cette modification, mise au point sous l'inspiration de M. le Professeur Bretin, est la meilleure amélioration qui se puisse apporter au procédé du Codex.

En effet, elle nous a semblé diminuer considérablement les irrégularités que l'on pouvait reprocher aux résultats obtenus par la technique officielle.

Ainsi, soit la poudre N° 1 pour laquelle nous avons trouvé, par la méthode du Codex :

2,13 %	2,27 %	2,30 %
--------	--------	--------

Sur cette poudre nous avons effectué trois nouveaux dosages, mais en utilisant la modification que nous venons d'exposer. Les résultats ainsi obtenus ont été :

2,32 %	2,35 %	2,31 %
--------	--------	--------

La poudre N° 2 qui avait donné les 3 résultats suivants :

1,77 %	1,96 %	1,86 %
--------	--------	--------

par la méthode du Codex, a donné, après la modification indiquée :

1,95 %	2,02 %	1,99 %
--------	--------	--------

La poudre N° 3, enfin, a donné :

2,02 %	1,99 %	2,06 %, contre :
--------	--------	------------------

2,00 %	1,89 %	1,96 % par la méthode du Codex.
--------	--------	---------------------------------

Les résultats sont donc beaucoup plus réguliers, et très légèrement supérieurs à ceux de la technique officielle.

Par conséquent, les irrégularités de cette technique semblent dues à un englobement variable de caféine

dans les impuretés entraînées en même temps que la caféine, englobement qui, par suite, fait disparaître une faible partie, non négligeable cependant, de l'alkaloïde lors de la reprise acide. Et pour le vérifier, nous avons pris deux résidus impurs, « résineux », restés sur le filtre, et qui sont sensés ne plus contenir de caféine. Nous les avons desséchés à l'étuve, puis agités dans un ballon avec un mélange d'éther et de chloroforme. Cette liqueur éthéro-chloroformique agitée dans une petite boule à décantation, avec quelques cc. d'eau acidulée par SO^4H^2 , précipite nettement par le réactif iodo-ioduré et par l'acide silico-tungstique. Donc le résidu contenait encore de la caféine qui est ainsi mise en évidence.

B) MÉTHODE DU FORMULAIRE DES HOPITAUX MILITAIRES (1917)

Cette méthode utilise l'extraction par l'eau bouillante. Or, le thé ou le café, traités par ce procédé, restent en suspension dans l'eau, donc sont placés dans des conditions d'épuisement favorables. Au contraire, l'ébullition directe à l'eau des poudres de Cola, même bien mouillées au préalable par un traitement au mortier, est pratiquement impossible. A cause de sa densité, la poudre tombe toujours rapidement au fond du récipient et y brûle. Si l'on veut opérer au bain-marie, il faut agiter continuellement pendant plusieurs heures, ce qui demande beaucoup trop d'attention pour que la méthode soit pratique. Cette agitation est obligatoire par suite de la viscosité que prend le mélange,

viscosité qui s'oppose certainement à un épuisement convenable ; or, pour que celui-ci soit complet, le Formulaire des Hôpitaux militaires indique 3 heures pour le thé, et Morin a constaté que cette indication est insuffisante, et qu'en réalité 5 ou 6 heures sont nécessaires.

Si l'on veut essayer d'employer un appareil à épuisement continu, genre Soxhlet, la Kola pulvérisée gonfle avec l'eau et donne une masse visqueuse qu'il est impossible à l'eau de pénétrer ensuite. L'épuisement très mauvais est dû à l'empois formé par l'amidon naturel de la noix de Cola.

Modification de Morin. — Nous avons vu qu'elle consiste en un traitement préalable du thé par macération dans une quantité convenable d'ammoniaque, qui semble ramollir les cellules et assurer alors une pénétration plus facile par l'eau bouillante. Pour le thé, les résultats sont bons. Mais cette modification de technique convient beaucoup moins bien au traitement de la Cola : sous l'action de l'ammoniaque, la poudre reste aussi cornée, et c'est tout juste si les mélanges ne deviennent pas encore plus gluants qu'avec l'eau bouillante employée directement et seule.

L'emploi de la soude, au lieu d'ammoniaque, conduit à des mélanges encore plus visqueux, qui s'émulsionnent très facilement et rendent toute extraction impossible. De plus, l'action quelque peu prolongée des alcalis à chaud est susceptible d'altérer la caféine. Lebeau (13) dit que « la solution de caféine dans les liqueurs alcalines donne un composé qui est un dérivé alcalin de l'acide caféidine-carbonique, la café-

idine résultant elle-même du dédoublement de la caféine, avec perte d'anhydride carbonique, sous l'action de l'eau de baryte à l'ébullition ». On peut être en droit de craindre qu'il n'en soit de même avec des alcalis fixes.

Si l'on applique la méthode de Morin non plus à des poudres de Cola très fines, mais à des poudres semi-grossières, le mélange devient beaucoup moins gluant par l'action de l'ammoniaque, mais alors la pénétration de l'eau est très mauvaise par suite de la nature cornée des cellules.

En conclusion, ces procédés à l'eau, avec ou sans action préalable d'un alcali, semblent nettement peu recommandables.

D'ailleurs, ce qui nous confirme entièrement dans cette opinion, c'est que la nouvelle édition du Formulaire Pharmaceutique du Service de Santé de l'année 1931, qui vient de paraître, a remplacé pour la Kola la méthode du Formulaire 1917 par celle du Codex Medicamentarius, édition 1908.

C) MÉTHODE DE POWER ET CHESNUT

Nous avons le plus soigneusement possible étudié cette méthode exposée dans notre premier chapitre ; on peut l'employer soit avec un Soxhlet, soit par ébullition directe de la poudre de Cola dans l'alcool dans un ballon surmonté d'un réfrigérant ascendant et chauffé par un bain-marie électrique (pour éviter les risques d'incendie en cas de bris du ballon).

La méthode de Power et Chesnut revient, tout compte fait, à :

- 1° Extraire la drogue par l'alcool ;
- 2° Concentrer à l'état d'extrait mou ;
- 3° Faire un dosage de l'extrait mou par un procédé convenable indiqué par les auteurs.

Ce dernier dosage consiste à traiter l'extrait mou par de l'eau en présence de magnésie ; il ressemble beaucoup à la méthode du Codex pour le dosage de la caféine dans l'extrait mou de Kola.

Cette technique de Power et Chesnut, il faut bien le remarquer, a été établie pour le café et le thé, selon le mémoire original de ces deux auteurs : « An improved method for the quantitative determination of caffeine in vegetable material », mis au point au « Phytochemical Laboratory Bureau of Chemistry U.S. Department of Agriculture ». Il ne précise pas le degré de l'alcool à employer, mais dit simplement « alcohol ». Aussi pensons-nous qu'il s'agit d'alcool pur à 96° et c'est celui-là que nous avons employé.

Les auteurs, après avoir étudié avec leur méthode thé, maté et café, rapportent un seul essai fait avec du guarana « dans le but de vérifier s'il est possible d'en faire une application générale » (in order to obtain as much evidence as possible concerning the general applicability of the proposed method of assay). Notons donc bien qu'ils n'ont fait aucun essai avec la Kola ; or cette drogue est beaucoup plus difficile à pénétrer que la feuille de thé ou le maté, même par l'alcool ;

de plus, la composition chimique est suffisamment différente pour que l'extraction puisse ne pas se passer de même.

Enfin la reprise de l'extrait mou par de l'eau en présence de magnésie conduit à un produit qui filtre très difficilement et extrêmement lentement, l'opération devient alors très longue (il faut souvent plus de 24 heures avant que l'écoulement sur le filtre soit à peu près complet, et que, par conséquent, on puisse pratiquer les lavages supplémentaires par l'eau chaude, eux-mêmes aussi longs.

Pour pouvoir juger équitablement cette méthode américaine il nous a fallu chercher à faire plus d'essais que ne le permet la lenteur du dosage final par la technique originale. Pour cela nous avons opéré ainsi: à partir d'une poudre de Cola, nous avons effectué « l'extraction », c'est-à-dire la première partie du dosage, en suivant de façon précise la technique des deux auteurs américains ; puis, lorsqu'on a ensuite distillé l'alcool et obtenu un véritable extrait mou, nous avons dosé cet extrait par la technique du Codex français ; on sait qu'il a été montré, en particulier par François (10), comme nous l'avons rappelé plus haut, que si la méthode du Codex 1908 a quelques inconvénients pour la poudre de Kola, la technique de ce même Codex pour l'extrait mou est au contraire excellente.

Nous avons fait quatre dosages comparatifs en amenant les échantillons de noix de Kola à l'état de poudre très fine (n° 45) par des pulvérisations convenables au mortier de fer. Comme nous opérons

toujours des dosages comparatifs sur les mêmes lots de poudres, les résultats restent toujours entièrement comparables quelle que soit l'humidité naturelle de la poudre. En pratique, d'ailleurs, et particulièrement dans le commerce de la droguerie, on ne détermine presque jamais cette humidité, car il est plus normal de rapporter la teneur en caféine à un poids réel de poudre telle quelle, et non pas supposée desséchée à 100°, puisqu'à l'état naturel elle n'est pas desséchée.

	Dosages Codex		Dos. par la méthode Power et Chesnut	
Poudre n° 1....	2,13 %	2,27	2,30	1,81
Poudre n° 2....	1,77	1,95	1,86	1,59
Poudre n° 3....	2,00	1,89	1,96	1,64

Conclusion : La méthode d'extraction de Power et Chesnut appliquée à la noix de Cola, drogue que les auteurs n'ont pas essayée, donne des résultats nettement inférieurs à ceux du Codex.

D'ailleurs l'inverse eût été étonnant; car on aurait alors pu considérer l'alcool comme capable d'extraire la totalité de la caféine de la Cola. Or Boulanger-Dausse (2) entre autres, a depuis longtemps démontré que cela n'a jamais lieu. Spécialiste de la question, il conclut en effet : « On pourrait supposer que les Kolas renfermant un mucilage, celui-ci se coagule en présence de l'alcool, s'opposant à la pénétration du solvant dans la poudre à épuiser ».

Il n'y aurait rien d'étonnant, à notre avis, à ce que ce « mucilage » soit simplement l'amidon naturel de la noix de Cola.

D) MÉTHODE DE GOMBERG

La méthode de Gomberg se contente d'épuiser la plante à caféine par l'eau bouillante. Le procédé d'extraction est donc nettement en défaut pour la noix de Kola, comme nous l'avons montré en étudiant la méthode du Formulaire des Hôpitaux Militaires 1917.

Mais Gomberg avait eu l'idée originale d'appliquer l'iodométrie à la détermination quantitative de la caféine ; c'est à cette question que nous allons consacrer le chapitre suivant.

CHAPITRE IV

Iodométrie de la caféine pure

Une solution aqueuse saturée de caféine ne trouble pas la solution iodoiodurée (Codex). La précipitation de la caféine par le réactif de Bouchardat ne se produit en effet qu'en milieu acide, à condition que l'acidité soit suffisante, ce dont Gomberg avait tenu compte dans sa méthode de dosage de la poudre de Kola.

Morin a d'ailleurs constaté, au cours de son travail sur la caféine, qu'aucune fixation d'iode n'a lieu en milieu neutre ou alcalin.

En appliquant la méthode de Gomberg à une solution titrée de caféine pure, nous avons rapidement reconnu que les résultats obtenus sont réguliers, mais non très exacts, si l'on utilise le coefficient de transformation donné par l'auteur. Aussi, sur le conseil de M. le Professeur Bretin, nous sommes-nous efforcé de reprendre la question en étudiant le mieux possible les détails opératoires, et les circonstances susceptibles de jouer un rôle : ordre de succession des opérations, détermination qualitative et quantitative de l'acidité optimum, de l'excès d'iode titré à em-

ployer, de la quantité d'iode qui entre en réaction et par suite de la formule exacte de la solution iodo-iodurée à utiliser ; importance de la solubilité de l'iode d'iodhydrate de caféine dans le milieu réactionnel, cette solubilité pouvant empêcher que la précipitation se fasse suivant les chiffres théoriques ; durée de la précipitation nécessaire pour que l'iodosel formé devienne suffisamment macrocristallin pour ne pas traverser les filtres.

Tous nos essais ont été faits à une température variant entre 15° et 18°.

Détermination de l'acidité optimum :

Premiers essais : 6 erlenmeyers numérotés 1 à 6, contenant chacun 100 milligr. de caféine pure dissous dans 50 cc. d'eau distillée, à laquelle on ajoute 5 cc. d'iode N/10.

1. Laissé tel quel comme témoin : reste limpide, inaltéré.

2. On ajoute 1 cc. SO^4H^2 N/10 : reste également limpide.

3. On ajoute 5 cc. SO^4H^2 N/10 : au bout de quelques secondes apparaît un trouble brun verdâtre, puis après 5 minutes, un précipité très net, qui est partiellement décanté en 10 minutes. Un fragment du précipité examiné au microscope est nettement microcristallin.

4. On ajoute 20 cc. SO^4H^2 N/10 : on fait les mêmes constatations, mais la décantation est beaucoup plus rapide. Après 10 minutes, le précipité est totalement collé au fond de l'enlenmeyer, le liquide surnageant étant parfaitement limpide. Ce liquide

filtré ne précipite absolument plus, même après un temps assez long par un gros excès d'acide.

5. On ajoute 5 cc. SO^4H^2 à 10 % en poids : on observe une précipitation brutale, une partie du précipité reste presque colloïdale, passant au travers des filtres, et demande au moins une heure pour se sédimenter complètement.

Deuxième série d'essais : On opère à nouveau sur 6 erlenmeyers contenant la même quantité de caféine que précédemment. A chacun on ajoute 5 cc. de solution d'iode N/10, puis respectivement, 0, 5, 10, 15, 20 et 25 cc. de SO^4H^2 N/10. Le premier erlenmeyer servira de témoin.

Au premier abord le phénomène semble être identique dans tous les erlenmeyers, la précipitation se fait totalement. Le précipité se tasse aussi rapidement pour les uns que pour les autres. Cependant, même si l'on complète avec q. s. eau distillée pour amener tous les liquides au même volume, on s'aperçoit que les teintes jaunes des liqueurs surnageantes vont en décroissant de 2 à 6. C'est donc que du n° 2 au n° 6, en même temps qu'augmente l'acidité, augmente la quantité d'iode qui se combine, donc diminue l'iode qui reste en solution. D'ailleurs la partie limpide surnageante du n° 3 reste limpide après addition de quelques gouttes de SO^4H^2 10 %, tandis que, si l'on fait la même chose pour le n° 2, on obtient rapidement une opalescence et après un quart d'heure, des traces très nettes de précipité. Il y a donc dans le n° 3 une acidité insuffisante pour que la combinaison soit totale, tandis qu'au n° 4 elle semble avoir été suffisante.

Troisième série d'essais, importance d'une acidité plus grande : Si au lieu de 25 cc. de SO^4H^2 N/10 on emploie 10 cc. de SO^4H^2 normal, soit quatre fois plus, la précipitation est beaucoup plus rapidement cristalline, le stade colloïdal est fortement diminué, le précipité se rassemble en quelques minutes et le filtrat est immédiatement limpide. Mais à quel moment la précipitation est-elle totale puisqu'elle augmente en même temps que l'acidité ?

Quatrième série d'essais : Dans 14 erlenmeyers nous avons mis uniformément 50 cc. de solution de caféine à 2 0/00, soit 100 milligr. d'alcaloïde. A chacun nous ajoutons n cc. (chiffre variable) de solution à 10 % de SO^4H^2 , puis (50—n) cc. d'eau distillée, et enfin 10 cc. d'iode n/10. Chaque vase contient donc : $50 + n + (50 - n) + 10$, soit 110 cc. de liquide. Après deux heures de repos nous filtrons et, sur 100 cc. de filtrat, dosons l'iode n/10 restant par l'hyposulfite n/10. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Numéros de erlens	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Valeur de n cc $\text{S O}^4 \text{H}^2$ 10 %	1	2,5	5	7,5	10	12,5	15	20	25	30	35	40	45	50
Hyposulfite n/10 nécessaire	3,35	2,2	1,75	1,35	1,25	1,15	1,1	1,0	0,9	0,85	0,8	0,8	0,85	0,9
Iode n/10 fixé	6,65	7,8	8,25	8,65	8,75	8,85	8,9	9	9,1	9,15	9,2	9,2	9,15	9,1

Conclusion : La réaction semble être stable et totale avec 40 à 50 cc. de SO^4H^2 10 %, c'est-à-dire avec une acidité représentant approximativement 5 % du milieu total.

Importance de la durée de contact

On voit, dans les essais de la série précédente, le précipité se déposer lentement durant au moins une heure. Au début il est, au moins en partie, dans un véritable état colloïdal, qui pendant un certain temps traverse les filtres, pouvant alors fausser les résultats.

Essai n° 1 : Quatre essais pratiqués sur quatre erlen renfermant 100 milligr. de caféine en solution dans 50 cc. d'eau distillée, 25 cc. de SO^4H^2 N/10, 25 cc. d'iode N/10 et de l'eau distillée en quantité suffisante pour un volume total de 110 cc., ont donné :

N° 1, filtré après un quart d'heure : 100 cc. de filtrat ont demandé 4 cc.,9 d'hyposulfite N/50.

N° 2, filtré après une demi-heure : 100 cc. de filtrat ont demandé 4 cc.,8 d'hyposulfite N/50.

N° 3, filtré après une heure : 100 cc. de filtrat ont demandé 4 cc. 6 d'hyposulfite N/50.

N° 4, filtré après douze heures : 100 cc. de filtrat ont demandé 3 cc. 8 d'hyposulfite N/10.

Essai n° 2 : Trois essais pratiqués sur trois erlen renfermant 100 milligr. de caféine en solution dans 50 cc. d'eau distillée, 50 cc. de SO^4H^2 N/10 et 10 cc. d'iode N/10, soit un volume total de 110 cc.

N° 1, filtré après deux heures : 100 cc. de filtrat ont demandé 4 cc. d'hyposulfite N/50.

N° 2, filtré après six heures : 100 cc. de filtrat ont demandé 3 cc. 5 d'hyposulfite N/50.

N° 3, filtré après dix heures : 100 cc. de filtrat ont demandé 3 cc. 4 d'hyposulfite N/50.

Donc, au total, la réaction est très lente et progressive. De plus, elle semblerait ne pas être parfaitement régulière, puisque les essais du tableau page 38 et ceux de la page 39, effectués avec une solution d'hyposulfite N/50 ne conduisent pas exactement aux mêmes résultats.

C'est qu'en réalité un autre élément joue un rôle extrêmement important, comme nous le verrons plus loin : la quantité d'iode à employer en excès. L'expérience nous a en effet montré que la réaction n'est régulière et totale en deux heures que lorsque l'excès d'iode est suffisamment grand.

INFLUENCE DE LA DILUTION : Les conditions de dilution du milieu réactionnel demandent à être très exactement précisées, pour éviter une dissociation possible des précipités d'iodosels. Il suffit en effet de mettre dans un tube à essai un peu de cet iodosel, bien décanté, et de le diluer dans quelques centimètres cubes d'eau distillée pour le voir lentement se dissocier et disparaître après quelques secondes. L'eau distillée, d'abord incolore, devient progressivement jaune, en même temps que disparaît l'opalescence.

INFLUENCE DE LA QUANTITÉ D'IODURE : Le précipité d'iodosel est très sensible à l'effet d'un excès d'iodure alcalin, qui le dissocie. La présence d'un excès d'iodure de potassium, lorsqu'on ajoute du réactif iodo-ioduré à une solution de caféine convenablement acidifiée, change le phénomène, et en tous cas ralentit considérablement la précipitation du composé d'addition. Afin d'éliminer le mieux possible l'influence de ce coefficient sur nos études quantitatives, il est essentiel

de toujours employer une solution d'iode N/10 de même composition, de teneur en iodure bien précisée. Nous avons choisi la formule la plus courante, celle du Codex, qui est officielle et contient par litre 12 gr. 7 d'iode et 18 gr. d'iodure de potassium.

INFLUENCE DE LA NATURE DE L'ACIDITÉ : A part quelques essais employant HCl, et qui nous ont donné les mêmes résultats qu'avec SO^4H^2 , nous avons fait tous nos dosages en utilisant SO^4H^2 à 10 %. L'acide acétique semble rendre les précipitations beaucoup plus lentes.

Nous remarquerons en passant que le dosage de l'iode par l'hyposulfite en milieu très acide ne présente aucune difficulté. L'ajustage des deux solutions l'une sur l'autre reste identique ; c'est seulement lorsque la limite est dépassée que l'excès d'hyposulfite est décomposé par l'acide avec formation de soufre colloïdal.

ROLE DE L'EXCÈS D'IODE : Ce rôle extrêmement important sera mis en évidence par les essais que nous allons rapporter par la suite. Nous verrons comment nous avons pu arriver à une sorte de règle pratique empirique indiquant combien il faut employer d'iode N/10 pour se placer dans les conditions optima de précipitation.

REMARQUE D'ORDRE GÉNÉRAL : En conclusion de tous ces essais nous voyons tout l'intérêt qu'il y a à n'employer l'iodométrie pour le dosage de la caféine que dans des conditions étroitement précisées, et qu'il faut par suite rigoureusement respecter. Cela n'est d'ailleurs qu'une très légère restriction à l'emploi de la mé-

thode ; en effet, lorsque nous cherchons à doser par iodométrie les résidus de la méthode du Codex, nous opérons sur des quantités voisines les unes des autres, variant relativement peu, du simple au double au grand maximum, ce qui nous permettra de nous placer facilement dans les mêmes conditions de dilution des réactifs entrant en jeu.

Etude quantitative - Courbes de transformation Coefficients

Même si l'on emploie un excès d'iode suffisant, condition impérative, comme l'expérience va nous le montrer, pour que le dosage soit régulier, les déterminations de quantités connues de caféine pure par la méthode de Gomberg, exactement suivie, conduisent à des résultats réguliers mais légèrement inexacts. Autrement dit, la méthode n'est pas rigoureuse, mais elle est fidèle. Nous avons voulu voir si le coefficient de transformation précisé par Gordin et Prescott après étude des iodhydrates de caféine, ne serait pas à modifier. Il n'y a rien d'étonnant, d'ailleurs, à ce que ce chiffre n'ait pas une valeur absolue, et qu'il ait besoin, pour la pratique, d'être légèrement changé selon les indications de l'expérience.

En effet, étant donné tout ce que nous avons dit précédemment, on comprend facilement que ce chiffre

n'ait de valeur réelle qu'en fonction des volumes totaux et des volumes de réactifs employés. Nous montrerons maintenant qu'en précisant bien toutes les conditions opératoires, on peut déterminer par l'expérience un coefficient de transformation légèrement différent de ce coefficient théorique de Gordin et Prescott, et donnant alors d'excellents résultats.

Première série d'essais : Elle a été faite avec de la caféine pure marque « Poulenc » cristallisée, officinale. En prenant des quantités progressives : 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 cc. d'une solution titrée de cette caféine, nous avons cherché tout d'abord à voir si la méthode est régulièrement proportionnelle, toutes les autres quantités (iode N/10 employé, SO_4H^2 10 %, volume total auquel on amène les liquides, parties aliquotes filtrées) restant exactement les mêmes.

Les résultats nous permettront d'établir un diagramme représentatif qui doit être une droite, s'il y a proportionnalité rigoureuse.

Ceci fait, il nous restera à refaire ces dosages sur des quantités bien déterminées de caféine chimiquement pure, de façon à vérifier l'étalonnage du diagramme.

Nous avons préparé tout d'abord une solution de 2 grammes de cette caféine pure Poulenc dans q. s. d'eau distillée pour faire 1 litre.

Nous en avons pris successivement 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 cc., nous avons ajouté dans chaque erlenmeyer :

1° q. s. eau distillée pour avoir 50 cc. ;

2° 50 cc. de SO^4H^2 10 % en poids ;

3° 10 cc. d'iode N/10 ;

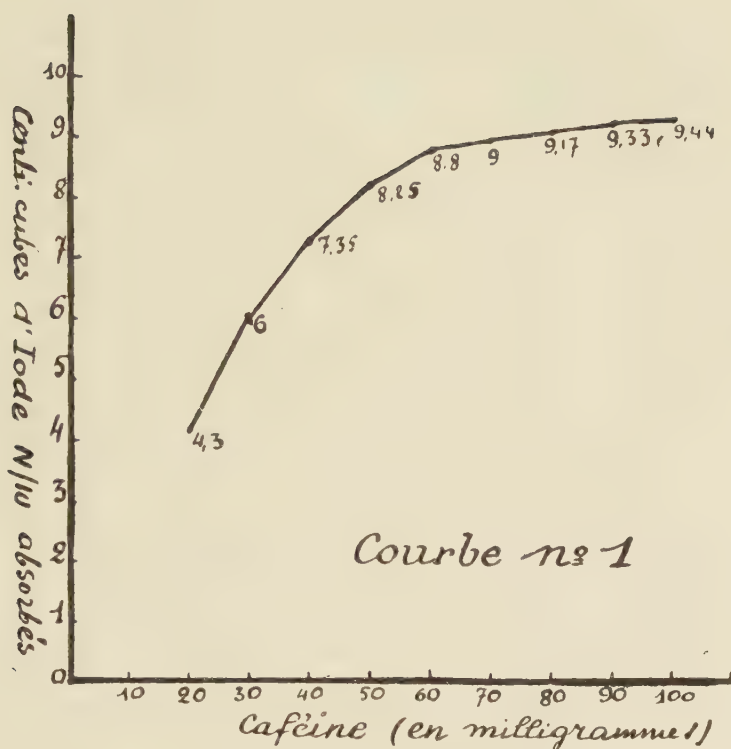
Le volume total de chaque essai est donc 110 cc.

Après agitation nous avons laissé en contact pendant deux heures. Nous en avons alors filtré 100 cc. dans lesquels nous avons dosé l'iode par l'hyposulfite de soude N/10 en présence d'empois d'amidon. Tous les virages ont été excellents, sans aucune recoloration.

Les résultats sont rapportés dans le tableau suivant :

Nombre de cc. de la solution de caféine	Caféine en milligrammes	Hyposulfite de soude N/10 nécessaire pour 100 cc. de filtrat	Hyposulfite de soude N/10 rapporté à 110 cc.	Nombre de cc. d'Iode absorbés par la caféine
10	20	5,2	5,7	4,3
15	30	3,7	4	6
20	40	2,4	2,65	7,35
25	50	1,6	1,75	8,25
30	60	1,1	1,2	8,8
35	70	0,9	1	9
40	80	0,75	0,825	9,17
45	90	0,7	0,77	9,33
50	100	0,6	0,66	9,44

Ce qui peut se résumer dans la courbe ci-dessous en portant en abscisses les quantités de caféine et en ordonnées les quantités d'iode absorbées.



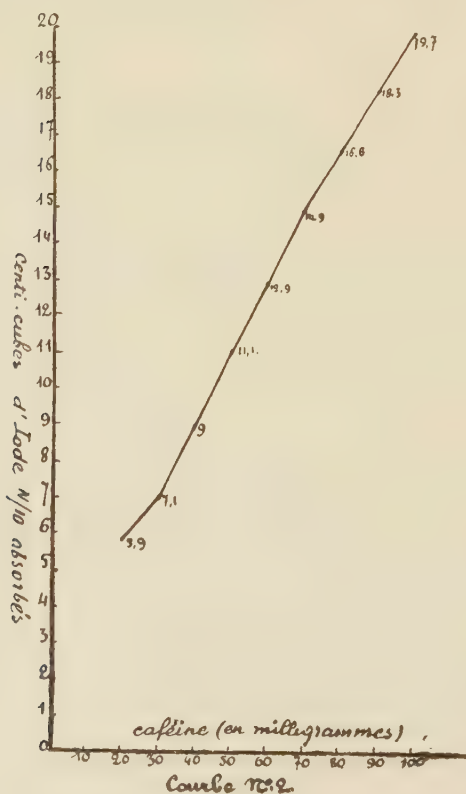
Conclusion: Dans les conditions opératoires où cette série d'essais a été faite, le phénomène est tout d'abord représenté par une droite passant très sensiblement par l'origine, mais la courbe s'incurve ensuite rapidement pour devenir nettement asymptote à la limite qui est 10 cc.

Or on peut se demander ce qui se passerait avec un excès d'iode titré beaucoup plus grand.

Deuxième série d'essais : Elle a été faite sur la même solution de caféine mais en employant 25 cc. d'iode N/10 au lieu de 10 cc. et amenant à 125 cc. dont on filtrera 100 cc. Voici les chiffres obtenus :

Nombre de cc. de la solution de caféine	Caféine en milligrammes	Hyposulfite de soude N/10 nécessaire pour 100 cc. de filtrat	Hyposulfite de soude N/10 rapporté à 125 cc.	Nombre de cc. d'Iode absorbés par la caféine
10	20	15,7	19,6	5,9
15	30	14,3	17,9	7,1
20	40	12,8	16	9
25	50	11,3	13,9	11,1
30	60	9,7	12,1	12,9
35	70	8,1	10,1	14,9
40	80	6,7	8,4	16,6
45	90	5,3	6,7	18,3
50	100	4,2	5,3	19,7

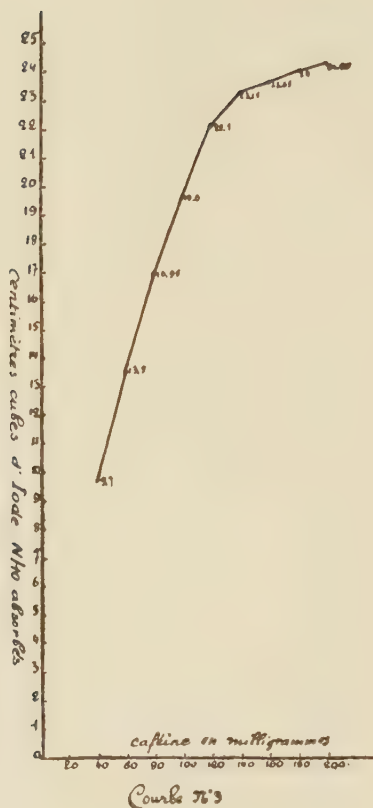
Ce qui peut se résumer par la courbe suivante :



Troisième série d'essais : Elle a été faite en employant une solution de caféine non plus à 2 0/00, mais à 4 0/00, et en ajoutant à chaque essai, d'abord 50 cc. de SO_4H^2 10 %, puis seulement 25 cc. d'iode N/10, et enfin en portant uniformément le volume total dans chaque vase à 125 cc. avec de l'eau distillée. Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau ci-dessous :

Nombre de cc. de la solution de caféine	Caféine en milligrammes	Hyposulfite de soude N/10 nécessaire pour 100 cc. de filtrat	Hyposulfite de soude N/10 rapporté à 125 cc.	Nombre de cc. d'iode absorbés par la caféine
10	40	12,9	15,3	9,7
15	60	9,4	11,8	13,15
20	80	6,4	8,05	16,95
25	100	4,3	5,4	19,6
30	120	2,3	2,9	22,1
35	140	1,4	1,75	23,25
40	160	1,1	1,35	23,65
45	180	0,8	1	24
50	200	0,6	0,75	24,25

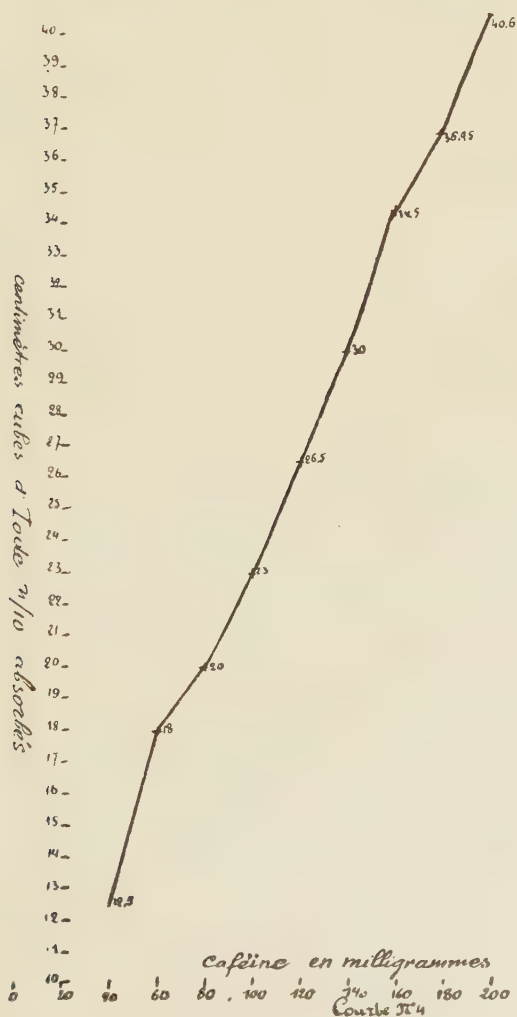
Ce qui se traduit par cette courbe qui met en évidence les inconvénients du manque d'iode :



(Courbe n° 3 traduisant le tableau de la page précédente.)

Une nouvelle série de dosages sur cette même solution de caféine à 4 0/00, mais avec 50 cc. d'iode N/10, même acidité, soit 25 cc. d'acide sulfurique à 20 % et q. s. d'eau distillée pour un volume total de 125 cc. nous a permis, d'après les chiffres suivants, d'établir une courbe.

Nombre de cc. de la solution de caféine	Caféine en milligrammes	Hyposulfite de soude N/10 nécessaire pour 100 cc. de filtrat	Hyposulfite de soude N/10 rapporté à 125 cc.	Nombre de cc. d'iode absorbés par la caféine
10	40	30	37,50	12,5
15	60	25,7	32	18
20	80	24,1	30	20
25	100	21,6	27	23
30	120	18,7	23,50	26,5
35	140	15,9	20	30
40	160	12,6	15,50	34,5
45	180	10,5	13,05	36,95
50	200	7,5	9,4	40,6

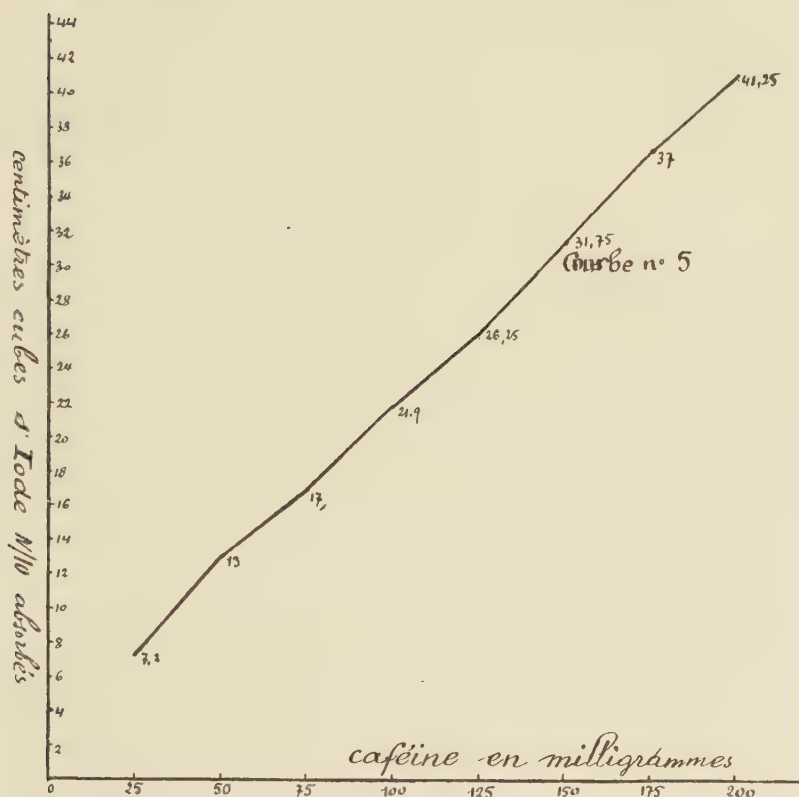


Cette courbe est suffisamment éloignée d'une droite pour que nous ayons recommencé une série analogue.

Nous avons alors opéré sur divers volumes d'une solution à 5 0/00 de caféine dans l'eau distillée, cette solution ayant été préparée avec toutes les précautions souhaitables. Les mesures des volumes de solutions ont été faites avec des pipettes de précision toutes vérifiées. Chaque volume de cette solution a été versé dans un ballon jaugé de 125 cc. contenant déjà 50 cc. d'iode N/10 rigoureux et 25 cc. de SO^4H^2 20 % (ceci pour respecter l'acidité de 4 à 5 % que nous savons maintenant être convenable). Nous avons alors complété chaque volume à 125 cc. avec de l'eau distillée, puis bouché et agité à plusieurs reprises. Après deux heures de repos nous avons filtré, recueilli 100 cc. de filtrat, et dosé l'excès d'iode par l'hyposulfite de soude N/10. Nous avons rapporté le résultat à 125 en multipliant par 1,25 le chiffre d'hyposulfite lu. La différence entre 50 et ce dernier chiffre nous a donné le nombre de centimètres cubes d'iode N/10 absorbés par la caféine contenue dans la prise d'essai.

Nombre de cc. de la solution de caféine	Caféine en milligrammes	Hyposulfite de soude N/10 nécessaire pour 100 cc. de filtrat	Hyposulfite de soude N/10 rapporté à 125 cc.	Nombre de cc. d'iode absorbés par la caféine
5	25	34,3	42,8	7,2
10	50	30	37,5	13
15	75	26,4	33	17
20	100	22,5	28,1	21,9
25	125	19	23,75	26,25
30	150	14,6	18,25	31,75
35	175	10,4	13	37
40	200	7	8,75	41,25

Nous pouvons alors établir la courbe suivante :



Cette courbe est sensiblement une droite ; mais cependant elle est suffisamment irrégulière et éloignée d'une droite pour que nous nous soyons demandé s'il n'y avait pas quelque part une cause d'erreur qui nous aurait échappé jusqu'à présent. Nous croyons avoir pu la supprimer par une très légère modification de notre technique opératoire.

Tout d'abord, Gordin et Prescott avaient noté que

la formation de l'iodosel se passe beaucoup plus régulièrement lorsqu'on verse l'alcaloïde dans l'iode en excès, ce qui se comprend d'ailleurs assez facilement. Nous opérerons donc toujours à l'avenir en versant la solution aqueuse de caféine dans le ballon jaugé où l'on a mis la totalité de l'iode titré en excès et de l'acide que l'on veut employer.

D'autre part, lorsque, après deux heures de repos, le précipité d'iodosel est totalement sédimenté et la réaction terminée, nous avons jusqu'à présent filtré le liquide surnageant en évitant soigneusement d'agiter. Or on peut se demander avec raison si le liquide surnageant le dépôt est homogène; et la réponse est évidemment négative; la sédimentation s'est en effet produite lentement, par suite du grossissement progressif des cristaux d'un précipité tout d'abord presque colloïdal; après les deux heures de repos que nous observons il semble certain que les couches inférieures, surnageant le précipité, ont une composition légèrement différente, en iode libre, des couches supérieures du ballon. Aussi nous a-t-il paru dès lors sage — et l'expérience nous a montré que nous avons raison — d'opérer ainsi : après les deux heures de repos le ballon jaugé est bouché puis soigneusement retourné à plusieurs reprises sans être secoué violemment. De cette façon, le liquide est rendu homogène, et le précipité, remis en suspension mais non finement divisé, se dépose à nouveau assez rapidement. Il suffira alors d'attendre quelques instants et de filtrer en continuant le dosage comme précédemment.

Dès que nous avons utilisé cette légère modification

nous avons vu nos résultats se régulariser définitivement ; nous allons rapporter ici ceux que nous avons obtenu ainsi.

Essais quantitatifs définitifs : Ces essais ont été pratiqués avec de la caféine chimiquement pure « Poulenc », répondant aux caractères suivants :

Aspect : très beaux cristaux blancs, soyeux.

Perte d'eau à 100° : Nous avons pesé très exactement 1 gr. 118 de caféine, que nous avons séché à l'étude à 100° jusqu'à poids constant, atteint après dix heures. Ce poids constant est 1 gr. 024, soit une perte de 0,094, soit 8,4 %. Or le Codex indique « elle retient une molécule d'eau soit 8,5 % de son poids ».

Point de fusion : Ce point de fusion a été pris au bloc de Maquenne avec un thermomètre de précision, il a été nettement compris entre 233° et 236° et le Codex indique 234°.

Nous avons alors opéré exactement comme dans notre dernière série précédente d'essais, mais après les 2 heures de repos, avant de filtrer, le ballon bouché a été retourné plusieurs fois pour bien homogénéiser le milieu réactionnel, comme nous venons de l'exposer ; puis après quelques minutes de repos nous avons filtré et recueilli 100 cc. de filtrat dans lequel nous avons dosé l'iode en excès. Les résultats obtenus avec une solution rigoureusement à 5 0/00 de caféine chimiquement pure Poulenc dans l'eau distillée à 15° ont été les suivants :

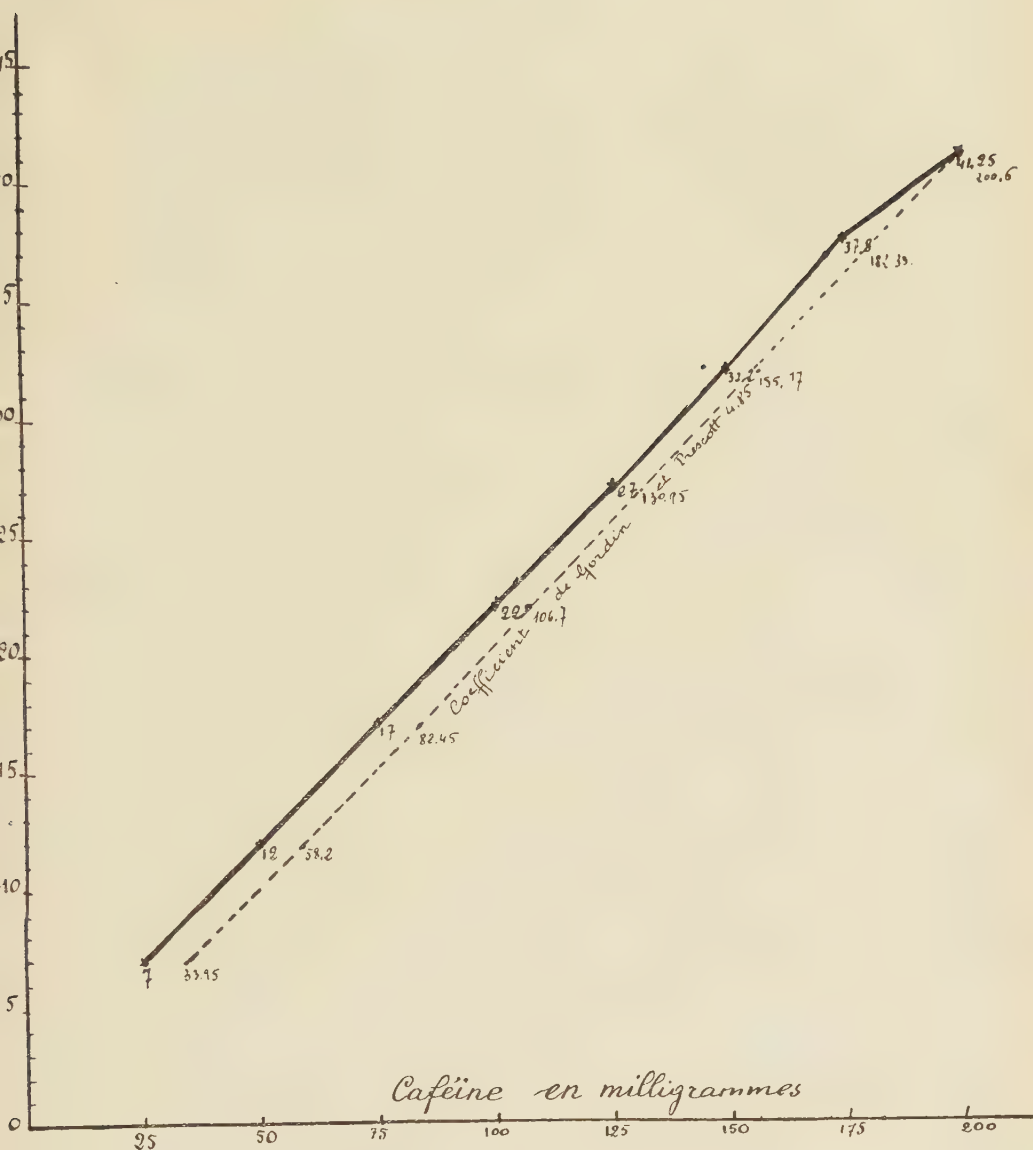
Nombre de cc. de la solution de caféine	Caféine en milligrammes	Hyposulfite de soude N/10 nécessaire pour 100 cc. de filtrat	Hyposulfite de soude N/10 rapporté à 125 cc.	Nombre de cc. d'Iode absorbés par la caféine
5	25	34,4	43	7
10	50	30,5	38	12
15	75	26,35	33	17
20	100	22,45	28	22
25	125	18,4	23	27
30	150	14,2	17,8	32,2
35	175	10,45	13,2	37,8
40	200	7	8,75	41,25

Ce tableau pouvant se résumer par la courbe qui occupe la page suivante.

Nota. — Plusieurs des essais quantitatifs ci-dessus ont été repris avec toutes les précautions nécessaires, soit avec de la caféine pure de la « Pharmacie Centrale de France », soit avec de la caféine « toute pure » de Merck. Toujours les résultats ont coïncidé de façon parfaite avec les précédents. Aussi pouvons-nous maintenant considérer cette courbe comme très bonne. De toutes les analyses que nous venons de faire nous tirons les conclusions suivantes :

1° La précipitation par l'iode de la caféine dans un milieu d'acidité sulfurique 5 % se passe d'une façon très régulière lorsqu'on emploie un nombre de centimètres cubes d'iode N/10 assez voisin de la moitié du nombre approximatif de milligrammes de caféine à doser. Il est toujours bon qu'il y ait un grand excès d'iode N/10.

2° Il est nécessaire de préciser de façon étroite les conditions d'emploi et d'application de la technique



Courbe N° 6

opératoire ; celles que nous avons étudiées sont d'ailleurs les plus intéressantes car elles conviennent très bien aux quantités de caféine que l'on a à doser par la méthode du Codex.

Si l'on veut ou doit, pour des raisons spéciales, opérer dans d'autres conditions de dilution, il sera nécessaire de commencer par opérer d'abord un dosage comparatif sur de la caféine chimiquement pure en utilisant la technique indiquée.

3° Mais si l'on emploie les conditions opératoires que nous venons de préciser le mieux possible lors de l'établissement de cette même courbe, on pourra y recourir et obtenir ainsi de très bons résultats.

4° On est enfin obligé de conclure de l'examen de cette courbe qu'il n'est guère possible de déterminer un unique coefficient de transformation précis comme celui que conseillaient Prescott et Gordin. A ce dernier correspondrait sur notre diagramme la droite tracée en pointillé.

Le coefficient varie donc lorsque, toutes les autres conditions opératoires restant le plus rigoureusement possible identiques, la quantité de caféine varie. Aussi nous semble-t-il plus simple de renvoyer au diagramme. On pourrait facilement aussi dresser un tableau de correspondance que l'on peut résumer par la règle empirique suivante, basée sur le quasi parallélisme de notre courbe et de la droite qui, au lieu de correspondre au coefficient 4.85, correspondrait au coefficient 5 :

Entre 25 et 175 milligr. de caféine pour les conditions opératoires que nous avons longuement exposées

de façon précise, retrancher 2 cc. du nombre de centimètres cubes d'iode fixés et multiplier le nombre ainsi obtenu par 5 milligr. C'est dans ces conditions seulement que nous pouvons définir de façon précise la valeur en caféine de 1 cc. d'iode N/10.

Conclusion : On possède ainsi une méthode peut-être un peu empirique mais simple, pratique et rapide. Nous l'avons vérifiée et fait vérifier par deux autres expérimentateurs avec les différents échantillons de caféine pure dont nous avons précédemment parlé. Les résultats obtenus ont toujours été excellents, avec une approximation dépassant 2 à 3 %.

CHAPITRE V

Application de l'iodométrie au dosage de la caféine dans la Kola

Lorsque nous avons eu mis au point notre procédé de dosage iodométrique de la caféine, M. le Professeur Bretin nous a conseillé de l'appliquer à la détermination de la teneur en alcaloïde chimiquement pur du résidu final que le procédé Codex de dosage de la Kola fait justement peser comme étant de la caféine pure. Ce devait être là, nous avait-il indiqué, un moyen supplémentaire de mieux connaître encore la valeur exacte de la méthode officielle, surtout après la modification que nous lui avons proposée.

Pour pouvoir appliquer l'iodométrie à un tel résidu Codex, il faut tout d'abord amener celui-ci à l'état de solution. Or l'expérience montre immédiatement que cette caféine « pure » — on devrait plutôt dire « très purifiée » — n'est cependant pas soluble entièrement dans l'eau ; on retrouve en effet lors de cette opération, au moins en partie, les légères difficultés techniques que l'on rencontre dans la « reprise » acide que le Codex impose pour la purification de la caféine brute obtenue de premier jet dans le dosage officiel de la poudre de noix de Kola. Nous avons étudié ces

difficultés dans notre précédent Chapitre III, et exposé comment nous pensons voir en elles les causes d'erreurs de la méthode de la Pharmacopée française. Pour y obvier, nous avons avantageusement utilisé ici une technique dérivée de celle que nous avons exposée à ce moment : nous avons dissous le résidu dans quelques centimètres cubes de chloroforme, ajouté 5 cc. de SO^4H^2 10 %, 50 cc. environ d'eau distillée et longuement fait bouillir pour chasser le chloroforme. Par une simple filtration au papier, la presque totalité des impuretés grasses ou résineuses qui souillaient la caféine pure sont éliminées.

Le liquide aqueux ainsi obtenu en contient cependant encore des traces, suffisantes pour gêner la précipitation de la caféine par le réactif iodo-ioduré ; elles rendent en effet cette précipitation beaucoup plus lente et moins bien cristallisée. Ces traces d'impuretés organiques entraînées par la solution aqueuse ne risquent cependant pas d'absorber d'iode ; l'essai suivant montre que la masse, beaucoup plus importante, des impuretés restées sur le filtre n'en absorbe même pas sensiblement. Nous avons mis en contact 5 cc. d'iode N/10, 5 c.c. de SO^4H^2 à 10 %, la totalité du résidu resté sur le filtre dans l'opération précédente [un essai pratiqué sur un fragment de celui-ci nous ayant nettement montré qu'il ne contient plus de caféine décelable par l'acide silicotungstique ou le réactif iodo-ioduré], puis de l'eau distillée pour compléter à 100 cc., après 24 heures de contact, 50 cc. de filtrat ont demandé très exactement 5 cc. d'hyposulfite N/10 : Il n'y a donc pas eu pratiquement de fixation d'iode.

Mais néanmoins nous avons jugé préférable de toujours déféquer les solutions aqueuses acides de reprise par du sous-acétate de plomb (extrait de saturne officinal) après neutralisation à la soude pure en présence d'un papier de tournesol. L'excès de plomb est ensuite précipité par du sulfate de soude, technique classique indiquée dans la méthode du *Formulaire des Hôpitaux Militaires* de 1917. -

Nous avons vérifié à plusieurs reprises que ce mode opératoire n'entraîne pas trace de caféine. Le fait a d'ailleurs déjà été signalé par Morin (*Thèse*, page 29).

Dans ces conditions, la précipitation est beaucoup plus rapidement cristalline.

Nous pouvons cependant noter que cette défécation au sous-acétate de plomb n'est pas indispensable. Avec la seule précaution de laisser la réaction se faire durant douze heures, la précipitation est totale et les résultats réguliers.

Essai n° 1 : Nous avons pris un résidu de caféine « pure » Codex, pesant 0 gr. 195 et provenant de la poudre n° 2 (voir ci-dessus, p. 26). Nous l'avons amené à 100 cc. de solution aqueuse acide, en utilisant la technique indiquée ci-dessus (dissolution première dans chloroforme, etc.).

50 cc. de cette solution ont été traités par iodométrie : addition de 50 cc. d'iode N/10 et de 25 cc. de SO_4H^2 à 10 %. Le volume total est donc, comme d'habitude, 125 cc.

Après douze heures de repos, l'iode en excès a été dosé sur 100 cc. de filtrat. Il a fallu exactement employer 21 cc.,55 hyposulfite N/10.

La deuxième prise d'essai de 50 cc., traitée de même, a conduit exactement au même résultat. 21 cc.,55 d'hyposulfite N/10.

Les 50 cc. de solution de caféine ont donc fixé :

$50 - (21,55 \times 1,25) = 23$ cc. 00 d'iode N/10, ce qui correspond, d'après notre courbe (voir page 55) à 104 milligr. de caféine cristallisée, soit :

$104 \times 0,915 = 91$ milligr. de caféine anhydre.

Donc le résidu qui, par la méthode du Codex, pesait 195 milligr., contient, par détermination iodométrique, 192 milligrammes de caféine pure.

Essai n° 2 : le résidu qui pesait 0,916 dans la poudre n° 3, a été dosé de la même façon. Le volume auquel il a été amené, divisé en deux parties égales, a nécessité, après traitement de chaque moitié, 21 cc. 45 d'hyposulfite N/10 ; chacune de ces deux moitiés du résidu a donc fixé $50 - (21,45 \times 1,25) = 23$ cc. 2 d'iode N/10, qui, d'après la courbe (voir page 55) correspondent à 107 milligr. de caféine cristallisée, ou $107 \times 0,915 = 98$ milligr. de caféine anhydre.

Donc, le résidu Codex qui pesait 0,196, a donné par iodométrie 0,196.

Essai n° 3 : Nous avons dosé, toujours par la même technique, le résidu qui pesait 0 gr. 200 dans la poudre n° 3. Il nous a donné après iodométrie et transformation par calcul en caféine anhydre 0 gr. 194.

REMARQUE IMPORTANTE. — *Il y a lieu de ne pas oublier que notre courbe de transformation (page 55) a été établie avec de la caféine cristallisée officinale, et que, d'autre part, la caféine pesée dans la méthode du Codex est au contraire anhydre. Aussi ne faut-il pas*

manquer, pour pouvoir appliquer notre méthode iodométrique à la vérification de la pureté des résidus de la méthode du Codex, de soigneusement transformer en caféine anhydre, en les multipliant par 0,915, les résultats auxquels conduit cette méthode iodométrique. Faute de quoi les résultats ne seraient pas réellement comparables.

Série d'essais n° 4: Les 3 résidus obtenus lorsque nous avons dosé la poudre n° 1 (voir ci-dessus, p. 26) par la modification que nous proposons à la technique du Codex pour rendre la purification des alcaloïdes plus régulière, ont été aussi dosés par iodométrie, en suivant les indications de la page précédente. Voici les résultats comparés, après que les résultats de l'iodométrie ont été transformés en caféine anhydre par le calcul :

<i>Pesée Codex</i>	<i>Iodométrie</i>
0,231	0,228
0,235	0,230
0,231	0,228

La conclusion de ces 6 dosages et de plusieurs autres qui nous ont donné des résultats identiques est la suivante : notre procédé très précis de dosage iodométrique de la caféine nous indique que l'alcaloïde « pur » obtenu dans le dosage Codex de la noix de Kola peut, en pratique, être considéré comme complètement pur. Les écarts les plus grands que nous ayons constatés n'ont jamais dépassé 3 %. Ce faits confirment encore la grande valeur du procédé officiel de notre Pharmacopée pour ces dosages de Kola.

Conclusions

I. — Au cours d'une revue des principaux procédés de dosage de la caféine dans les drogues dites « à caféine », nous avons fait connaître nos observations personnelles sur leur application plus particulière à la Kola.

II. — Parmi toutes les techniques qui ont été indiquées pour la noix de Kola (préalablement pulvérisée), celle du Codex 1908 est l'une des meilleures.

III. — Elle conduit cependant à des résultats légèrement irréguliers. Nous croyons avoir pu mettre en évidence la cause de ces irrégularités, et en même temps montrer comment on peut y remédier.

IV. — En particulier, nous avons signalé que les résidus ultimes de la méthode officielle, pesés comme étant de la caféine pure, ne contiennent pas plus de 3 % de leur poids d'impuretés.

V. — Ce dernier chiffre maximum a été déterminé en utilisant une méthode de dosage iodométrique de la caféine que nous croyons avoir bien mise au point

et qui nous semble pouvoir intéresser les chercheurs. A la seule condition de suivre un mode opératoire bien déterminé et toujours rigoureusement observé, on peut facilement escompter obtenir des résultats quantitatifs précis.

Vu : Le Doyen,
JEAN LÉPINE.

Le Président de la Thèse,
P. MANCEAU.

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 13 Juin 1932.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. LIRONDELLE

Bibliographie

- (1) BLONDET-DESBORDES. — Dosage des principes actifs dans les drogues servant à obtenir quelques extraits alcooliques. Etude spéciale de la Kola. (*Thèse Doct. Pharmacie*, Montpellier, 1923.)
- (2) BOULANGER-DAUSSE. — L'extrait de Kola. (*Bulletin Sc. Pharm.* Nov. 1910, tome XVII.
- (3) BRETIN (P.). — *Précis de Matière Médicale*. (Maloine, Paris, 1928.)
- (4) BRETIN (P.), MANCEAU (P.), MORIN (J.). — Méthode rapide de dosage de la caféine dans le thé. (*Bulletin Pharmaceutique de l'Est*, 1931, p. 125.)
- (5) *Codex Medicamentarius Gallicus*, édition 1908. et Suppl. 1920-1923-1926.
- (6) DEBREUILLE. — Procédé rapide de dosage limite des alcaloïdes dans les préparations du Codex. (*Thèse Doctorat en Pharmacie*, Paris, 1927, p. 19.)
- (7) DRAGENDORFF, d'après LEFEBVRE.
- (8) *Formulaire Pharmaceutique du Service de Santé de l'Armée*. Edition 1917.
- (9) *Formulaire Pharmaceutique du Service de Santé de l'Armée*. Edition 1931.

- (10) FRANÇOIS. — Notes de laboratoire sur le dosage de la caféine dans les préparations de Kola. (*Journal Pharm. et Chimie* (7), t. VIII, 1913, p. 411 et 451.)
- (11) GOMBERG. — De l'action du réactif iodoioduré sur la caféine et d'une nouvelle méthode de dosage de cet alcaloïde. (*Journal Pharm. et Chimie* (6), t. IV, 1896, p. 372.)
- (12) KIPPENBERGER. — *Zeit anal. chem.*, 1895, t. 34, p. 317.
- (13) LEBEAU et COURTOIS. — *Traité de Pharmacie chimique*. (Masson, Paris, 1929, 2^e volume.)
- (14) LEFEBVRE. — Etude historique et critique des principaux réactifs généraux d'alcaloïdes. (*Thèse Doctorat Pharm.*, Paris, 1912.)
- (15) LINARIX. — Contribution à l'étude des périodes des bases organiques. (*Thèse Doct. Pharmacie*, Paris, 1909.)
- (16) MEILLÈRE. — Essai des préparations de Kola. (*Journal Pharm. et Chimie* (7), t. V. 1912, p. 438.)
- (17) MORIN. — Contribution à l'étude du dosage de la caféine. (*Thèse Doct. Pharm.*, Lyon, 1929.)
- (18) POWER et CHESNUT. — Dosage de la caféine dans les végétaux. (*Journal of Amer. Chem. Soc.*, 1919, p. 1298.)
- (19) PRESCOTT et GORDIN. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1898, t. XX, p. 706 et 724.
- (20) RODIONOW, d'après LEFEBVRE.

- (21) SCHWEISSINGER. — *Arch der Pharm.*, tom. 64,
p. 615.
- (22) STOLTZ, d'après LEFEBVRE.
- (23) VAN BREUKELEWEEN. — *Chem. Weekk.*, d'après
Journ. Pharm. et Chim., 1^{er} janvier 1929,
p. 28.
- (24) WAGNER. — *Zeit. An. Chem.*, 1862, vol. 1, p.
102, d'après LINARIX.
- (25) EMERY et SPENCER. — *J. Ind. Eng. Chem.*, t. X,
1918, p. 1605, d'après *Journ. Pharm. et
Chim.*, 1919, tome 19, p. 86, et LEBEAU
et COURTOIS, v. 2, p. 199.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CH. I. — Les principaux procédés de dosage de la caféine dans les drogues dites « à caféine ». Etude particulière de la Kola	5
CH. II. — L'iodométrie appliquée au dosage des alcaloïdes	13
CH. III. — Nos essais personnels sur les quatre méthodes principales	19
A) Méthode du Codex	19
B) Méthode du <i>Formulaire des Hôpitaux</i> <i>Militaires</i> , édition 1917	27
C) Méthode de Power et Chesnut	29
D) Méthode de Gomberg	33
CH. IV. — Nos essais personnels sur l'iodométrie de la caféine pure. Détermination des condi- tions optima de précipitation	35
CH. V. — Application de l'iodométrie ainsi pré- cisée au dosage de la caféine dans la Kola. Détermination du degré de pureté des rési- dus auxquels conduit la méthode du Codex.	59
CONCLUSIONS.	65
BIBLIOGRAPHIE	67



BOSC FRÈRES, M. & L. RIOU

°° °° IMPRIMEURS-ÉDITEURS °° °°

°° 42, QUAI GAILLETON, 42 °°

°° °° °° °° LYON °° °° °° °°



